第39卷 第3期
1996年 8 月
昆 虫 学 报
ACTA ENTOMOLOGICA SINICA
Vol.39, No.3
Aug., 1996

高温对小地老虎和东方粘虫精子发生和形成的影响

王荫长 陈长琨 卢中建 李国清 尤子平
(南京农业大学植保系 南京 210095)

摘要 小地老虎和东方粘虫精子发生之后，开始分化出真核精子和无核精子。当温度超过32℃时，出现大量的畸形精细胞囊，精子形成受阻，核与鞭毛明显缩短，鞭毛中微管所受影响最大。但32℃温度以下不影响真核到无核精子的发生和二叉发生的转换。由此可见，小地老虎和粘虫夏季由南向北迁飞也是一种回避高温的适应性行为。

关键词 小地老虎，粘虫，精子发生，精子形成

小地老虎 *Agrotis ypsilon* Rottemberg 和东方粘虫 *Mythimna separata* Walker 都有远距离迁飞习性，在我国东南部每年早春常常出现同步发蛾[1]，表明它们蛾峰出现时间与对温度的适应能力都有许多相似之处。在夏季高温来临之前，就往北方迁飞。滞留在江南，夏季温度在34℃以上，繁殖率很低，种群进一步数量下降[2]。高温对小地老虎或粘虫繁殖的影响机制如何，首先要从高温对精子发生和形成着手，因为在一般情况下高温不影响产卵。本研究在小地老虎精子发生和形成的定量研究与超微形态观察的基础上[3,4]，着重分析精子发生和形成过程以及高温对精子产生影响与损伤以及临界温度和临界期。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

室外诱捕越冬代蛾，置(25±1)℃、RH 75%，光照16L∶8D的条件下累代饲养。小地老虎用三叶草饲养，粘虫用小麦叶饲养。设置温度分25℃、32℃与34℃，处置时期分为6龄幼虫全期、幼虫至蛹期以及蛹期。

1.2 光镜观察

在生理盐水中解剖供试昆虫，取得精巢，在载玻片上撕去围膜、涂片，干后用改良孚尔根涂片法染色，细胞质呈亮绿色，核质DNA呈红色。

1995-06-16收稿，1996-02-12收修改稿

1.3 电镜观察

将观察材料用2.5%戊二醛固定，4℃下过夜，重蒸水清洗，后再用1%锇酸后固定1.5h，酒精脱水，环氧丙烷包埋，切片厚度50nm，醋酸铀和柠檬酸铅对染，JEM－100cxII透射电镜下观察，拍照。

2 结果与分析

2.1 小地老虎与东方粘虫精子发生与形成的特点

小地老虎与东方粘虫具有真核与无核两类精子，因此在发生与形成之间存在一个二叉分化过程。在25℃下发育的雄虫，真核精子的发生分精原细胞囊、初级精母细胞囊、次级精母细胞囊、精细胞囊4个阶段，接着是形成过程，可分精细胞囊伸长、精子囊发育和精子束成熟3个阶段(图1)。无核精子的发生过程中无初级精母细胞囊期，形成过程无伸长阶段。据观察，精子发生时由真核向无核分化始见于预蛹期。在真核精子形成过程中，首先是鞭毛部分充分伸长，接着核向头部集中，后核和顶体一起伸长，而后期鞭毛伸长幅度很小，主要进行微管结构和线粒体衍生物的形成。精子成熟之前精细胞囊在尾部产生一个废袋，然后又将其脱出。

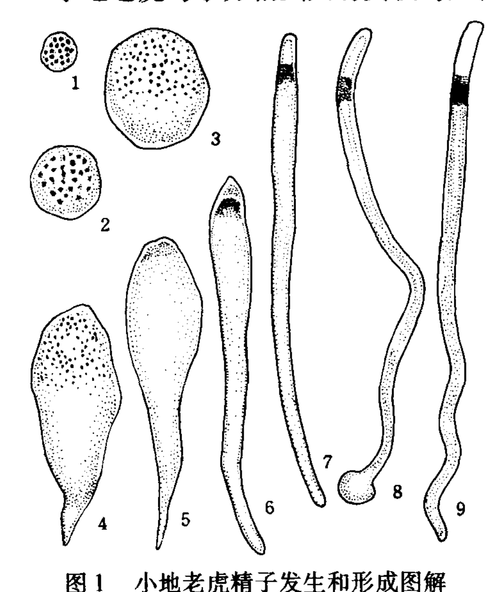


图1 小地老虎精子发生和形成图解

1,2. 精原细胞囊；3. 初级精母细胞囊；4. 精细胞囊；5. 伸长的精细胞囊；6,7. 发育中的精子束；8. 发育中的精子束终端形成废袋；9. 成熟的精子束

小地老虎和东方粘虫的精子发生、分化与形成的过程完全相同，但东方粘虫的精子束较小地老虎的长3倍(表1)，其中精子顶体、核和鞭毛也较小地老虎的长(表2)。

表1 小地老虎与东方粘虫的生精囊及精子束长度比较(单位：μm)

		精原细胞囊	初级精母细胞囊	次级精母细胞囊	精细胞囊	成熟精子束
小地老虎	真核精子	23.35±2.74	47.1±8.21	71.24±4.48	77.22±4.48	427.75
	无核精子	33.71±1.81	35.67±2.70	—	290.15±9.76 ×4.60±0.44	—
东方粘虫	真核精子	22.14±7.14	64.37±8.85	101.16±5.85	105.99±6.48	1285.82
	无核精子	22.14±3.14	37.93±2.94	—	445.44±6.30 ×5.06±0.18	—

表 2　小地老虎与东方粘虫精子长度比较(单位：μm)

		顶体	核	鞭毛
小地老虎	真核精子	39.85±1.78	27.18±1.20	360.72±7.46
	无核精子	11.82±1.15	9.16±1.06	8.41±0.56
东方粘虫	真核精子	80.73±4.51	108.18±4.21	1096.91±32.76
	无核精子	12.89±1.23	9.29±0.99	10.70±0.70

2.2　不同温度对精子发生和形成的抑制作用

2.2.1　临界温度：以 25 ℃、30 ℃、32 ℃ 与 34 ℃ 四种温度处理小地老虎与东方粘虫。以 32 ℃ 处理小地老虎蛹，第 9 d 精巢中即出现异常真核生精囊，并有大量畸形无核精细胞囊，而在 30 ℃ 下未出现异常现象，情况与 25 ℃ 下的相似，由此可见，32 ℃ 是影响精子发生和形成的临界温度(图 2)。

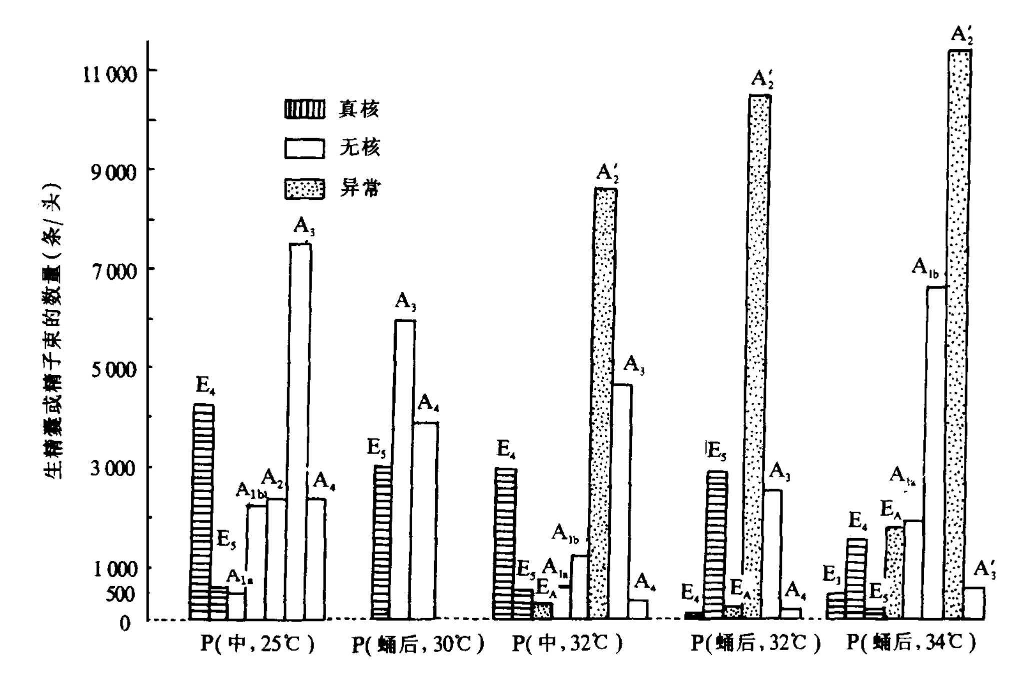


图 2　不同温度处理蛹期对小地老虎精子发生与形成的影响

真核：E_3　伸长的精细胞囊，E_4　发育中的精子束；　无核：A_{1a}　精原细胞囊，A_{1b}　精母细胞囊，E_5　成熟的精子束，A_2　精细胞囊，A_3　发育中的精子束，A_4　成熟的精子束；异常：E_A　异常的真核生精囊或精子束，A_2'　异常的无核精细胞囊

2.2.2　高温对小地老虎精子发生和形成的影响：小地老虎幼虫全期在 34 ℃ 下生长，化蛹后移到 25 ℃，精巢内精细胞囊的伸长明显受到抑制(图 3)，其中畸形率最高的属真

核精细胞囊，其中精细胞呈圆形，不规则排列，无极性化现象。至蛹中期及羽化当时，精巢内出现大量异常的真核生精囊和精子束，最终形成畸形精子，形状变小，核区和鞭毛都明显缩短。幼虫期在 34 ℃ 下发育至蛹后期移到 25 ℃ 下，蛹中期无核精子束大量增多，并不抑制其形成为正常的无核精子，但从发育的进程来看，有一定的滞后现象，至羽化时尚有许多精子束正处于形成之中，有一部分甚至尚处于精细胞囊阶段。蛹期在 34 ℃ 下生长，蛹初期精细胞囊发生受阻，精细胞呈圆形后，鞭毛不再伸长，核在精细胞中排列混乱，无极性现象，约有半数的真核精子形成较迟，抑制作用更为明显，而且发生期略提早。蛹全期均在 34 ℃ 发育，真核精子与无核精子都呈畸形，特别是后者，畸形的比例极高(图 4)。可见，高温的影响主要作用于精细胞囊形成为精子阶段。

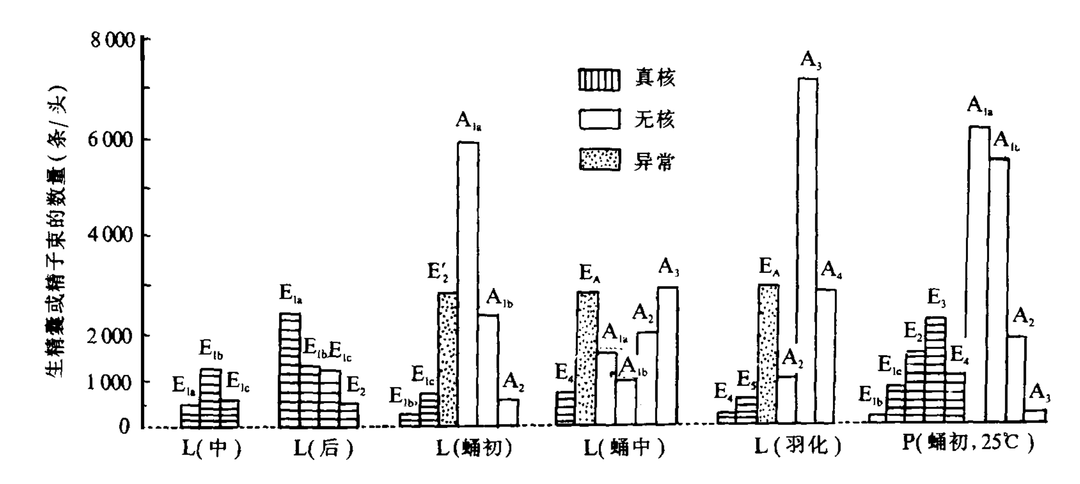


图 3 34 ℃ 高温处理幼虫期对小地老虎精子发生与形成的影响

真核: E_{1a} 精原细胞囊，E_{1b} 初级精母细胞囊，E_{1c} 次级精母细胞囊，E_2 精细胞囊，E_3 伸长的精细胞囊，E_4 发育中的精子束；无核: A_{1a} 精原细胞囊，A_{1b} 精母细胞囊，E_5 成熟的精子束，A_2 精细胞囊，A_3 发育中的精子束，A_4 成熟的精子束；异常: E_2' 异常的真核精细胞囊，E_A 异常的真核生精囊或精子束

2.2.3 高温对东方粘虫精子发生和形成的影响: 34 ℃ 处理粘虫幼虫全期，和小地老虎相似，阻断精细胞囊的伸长，至羽化时精巢内大量异常真核生精囊与精子束积贮。则在蛹期处理，至羽化时出现异常真核精子束，正常的数量减少，精细胞不伸长，不影响真核向无核转换，但影响真核—无核精子的形成，这也与小地老虎相似。

2.3 高温阻断精子形成的电镜观察

2.3.1 真核生精囊或精子束: 高温能够阻断精细胞囊或伸长的精细胞囊的发育，使其退化为异常的生精囊或精子束。在受阻的初期，囊中精细胞的超微结构和对照无明显差异，可以观察到正常的核、副核、高尔基体及顶体原体等，但所有精细胞的排列已很不规则，杂乱地分布在生精囊中。随着进一步的发育，形成的异常真核生精囊中出现多个空泡，空泡的四周常附着一圈片层外长物，在囊中的某些区域形成许多片层外长物堆，

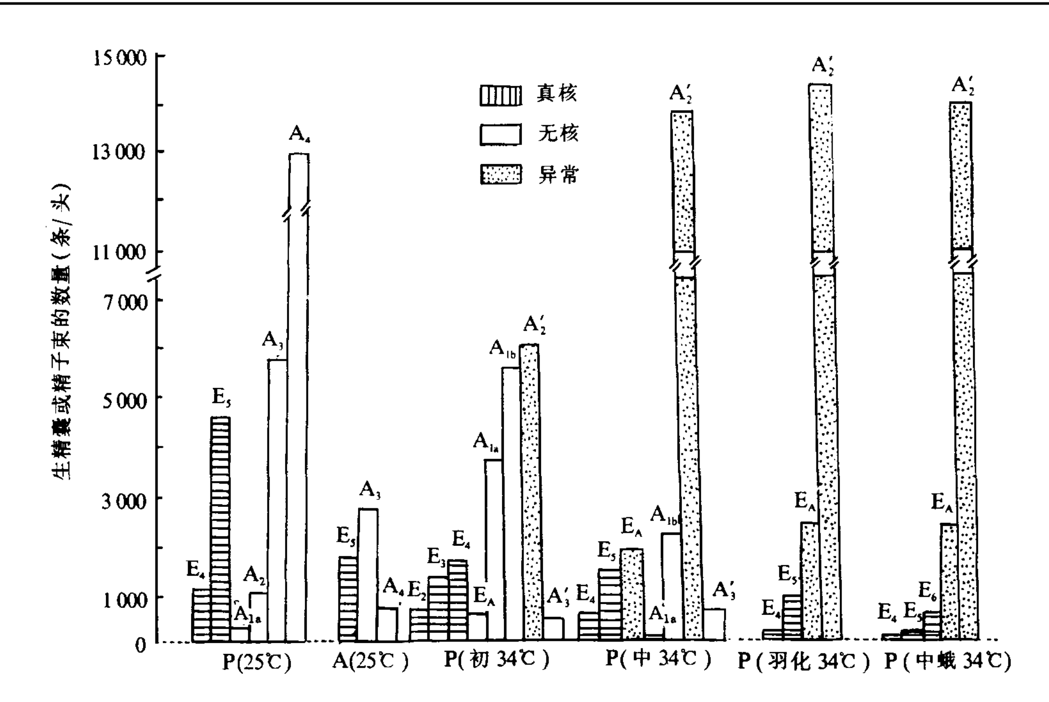


图 4　34 ℃ 高温处理蛹期对小地老虎精子发生与形成的影响

真核：E_2 精细胞囊，E_3 伸长的精细胞囊，E_4 发育中的精子束；无核：A_{1a} 精原细胞囊，A_{1b} 精母细胞囊，E_5 成熟的精子束，A_2 精细胞囊，A_3 发育中的精子束，A_4 成熟的精子束；异常：E_A 异常的真核生精囊或精子束，A_2' 异常的无核精细胞囊

而极少见到精子本体的结构；而有些异常生精囊中出现了许多电子致密、大小不等的圆形结构，有些区域则出现了一些畸形的真核精子，无规则地散布在其周围，其线粒体衍生物出现种种畸形，鞭毛中只形成轴及副微管和双微管，常缺少中央微管；异常生精囊形成的畸形精子中的精子本体游离在外长物形成的空腔中，这类精子亦常缺乏中央微管和正常的线粒体衍生物；而在一些较为“完善”的畸形真核精子中，网状和片层外长物均能正常地附着在精子的质膜上，但精子本体内充满了大量无定形的电子致密物质，在发育很不正常的线粒体衍生物的周围及介质中，出现了许多微管列，微管系统中仍然缺少中央微管。

根据上述种种现象，可以看出：高温对于真核精子的片层及网状外长物的影响较小，对于副微管、双微管及微管列的形成有较大的影响，而对中央微管及线粒体衍生物的影响最为严重，因此影响鞭毛的伸长；同时高温常导致多轴丝精子的产生。

2.3.2　无核生精囊：高温阻断了无核精细胞囊形成精子束的发育过程，使其退化成为异常的无核精细胞囊。在受阻期，囊中精细胞分布很不规则，但其各部分的超微结构和对照相似，在高温的作用下，这些精细胞能部分地进行异常的形成过程，整个圆形的生精囊中充满畸形无核精子，微核散布其中，随着精巢的发育，异常生精囊中出现许多空隙，其间有大量退化物质，有些生精囊则形成畸形的无核精子，其中线粒体衍生物发育

不全，排列紊乱，常缺少中央微管(图版I)。

3 讨论

3.1 实验结果表明，32℃～34℃高温对小地老虎和东方粘虫的真核与无核精子发生与分化过程无任何影响，对精子总体发生能力也只有轻微的抑制作用，其不利影响主要在于阻断了真核与无核精子的形成。无论小地老虎或东方粘虫，对高温最敏感时期是精细胞囊期，高温干扰精细胞的重组排列和伸长，从而阻断精子的形成，这种效应是不可逆的，其临界温度为32℃，低于32℃，精子形成不受任何影响。

3.2 高温导致真核精子束的核区极度缩短，但顶体却较正常的更长、陈革等[5]认为高温导致家蚕精子束头部明显缩短、生精囊崩解，而在小地老虎和东方粘虫中均未发现这种情况，精子束也只在核区缩短。

从超微结构来看，高温阻断精子的形成主要表现在真核精子的伸长中，其微管或微管形成受阻。这种机制与保幼激素影响生殖腺发育不同[6,7]，破坏作用也不同于γ－射线。高温对体细胞并无任何不良影响，甚至在精子发生过程中也不受影响，说明高温对虫体蛋白的合成有较强的选择性，这一点在研究雄性不育治虫时值得探索和利用。

3.3 小地老虎和东方粘虫的迁飞都发生在34℃高温出现之前。高温来临造成寄主植物营养条件的恶化，这是发生迁飞行为的某种信号暗示。通过实验，可以看出，高温对生殖系统的种种不利影响与迁飞之间似乎也有着一定的联系，两种夜蛾通过迁飞使它们能够寻求一种适宜的温度，以维持其正常的生存与繁殖。但高温来临之前出现的这种寻求适宜环境的迁飞机制是如何发生和形成的，更值得我们去深入研究。

参 考 文 献

1 王荫长. 小地老虎与粘虫发蛾同步现象的研究. 植物保护学报，1980，7(4)：247～251
2 张孝羲. 小地老虎种群消长规律研究. 华东昆虫学会会刊，1963，95～96
3 卢中建，王荫长，尤子平. 小地老虎精子发生和形成的定量分析. 南京农业大学学报，1992，15(1)：39～44
4 卢中建，王荫长，尤子平. 小地老虎真核和无核精子的超微结构. 南京农业大学学报，1993，16(3)：38～43
5 陈革，潘洁玲，甘礼珍. 高温对家蚕蛹期生殖细胞与产卵量的影响. 蚕业科学，1986，12(2)：110～113
6 Ashrafi S H, Roppel R M. Radiation－induced attraction of testes of larvae of the Indian meal moth, *Plodia interpuncterra* (Hübner). Ann. Entomol. Soc. Am. 1973, 66: 1324～1328
7 Deb D C, Chakravorty S. Turenoid－induced effects on the growth and differentiation of testes in the rice moth, *Corcyra cephalonica* J. Insect Physiol. 1981, 27(6): 397～402

THE EFFECTS OF RISEN TEMPERATURE ON SPERMATOGENESIS AND SPERMIOGENESIS IN *AGROTIS YPSILON* AND *MYTHIMNA SEPARATA*

Wang Yinchang　Chen Changkun　Lu Zhongjian　Li Guoqing　You Ziping

(*Department of Plant Protection, Nanjing Agricultural University Nanjing* 210095)

Abstract　The authors conducted qualitative and quantitive studies on spermatogenesis and spermiogenesis in *Agrotis ypsilon* and *Mythimna separata* with use of light and electron microscopes. At the same time, the effects of risen temperature were also studied. The results are briefly summarized as follows: There were eupyrene and apyrene sperms in *A. ypsilon* and *M. separata* after spermatogenesis. When the rearing temperature rose above 32 ℃, a lot of abnormal spermatid cysts appeared and spermiogenesis was arrested. In addition, the nucleus and flagellum of eupyrene sperm usually shortened and a large amount of flagellum microtubles could not be produced under this temperature. But the risen temperature (<32 ℃) had no effects on dichotomous spermatogenesis and the shift of spermatogenesis from eupyrene sperms to apyrene. This phenomenon implies that the migratory flight of *A. ypsilon* and *M. separata* in summer season from south toward north is an adaptive behavior.

Key words　*Agrotis ypsilon*, *Mythimna separata*, spermatogenesis, spermiogenesis

图　版　说　明

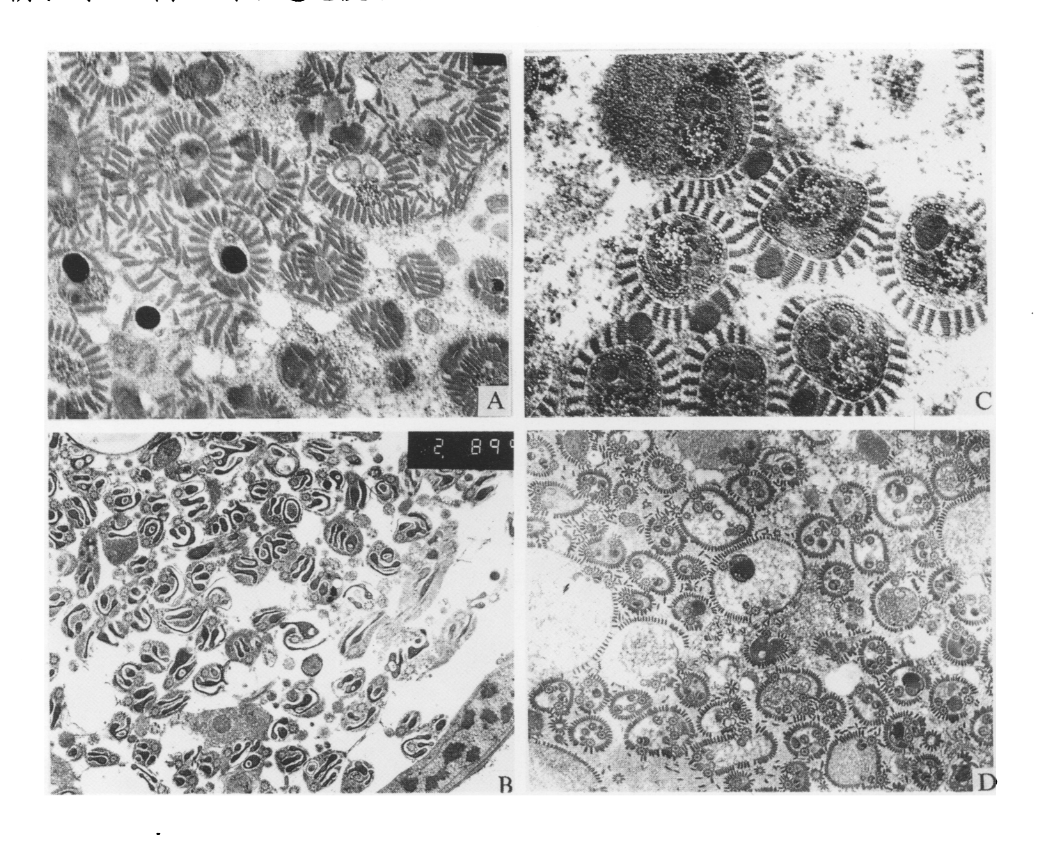
图版　I

A. 畸形精子不整齐分布在生精囊中，同一切面出现了核与鞭毛部分结构

B. 畸形精子横切面，示线粒体衍生物不规则

C. 畸形精子缺少中央微管(右上图局部放大)

D. 畸形精子外长物变形，形成大空腔


A
C
2 89
B
D